



INTERNATIONALE ANMELDUNG VERPFLICHTUNG NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation ⁷ : C12Q 1/68		A3	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 00/31294
			(43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 2. Juni 2000 (02.06.00)
(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE99/03747 (22) Internationales Anmeldedatum: 19. November 1999 (19.11.99) (30) Prioritätsdaten: 198 53 398.5 19. November 1998 (19.11.98) DE (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): EPIGENOMICS GMBH [DE/DE]; Kastanienallee 24, D-10435 Berlin (DE). (72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): BERLIN, Kathrin [DE/DE]; Marienkäferweg 4, D-14532 Stahnsdorf (DE). (74) Anwalt: SCHUBERT, Klemens; Joachimstrasse 9, D-10119 Berlin-Mitte (DE).		(81) Bestimmungsstaaten: AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, ARIPO Patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG). Veröffentlicht Mit internationalem Recherchenbericht. (88) Veröffentlichungsdatum des internationalen Recherchenberichts: 19. Oktober 2000 (19.10.00)	
(54) Title: <u>METHOD FOR IDENTIFYING CYTOSINE METHYLATION PATTERNS IN GENOMIC DNA</u>			
(54) Bezeichnung: VERFAHREN ZUR IDENTIFIKATION VON CYTOSIN-METHYLIERUNGSMUSTERN IN GENOMISCHER DNA			
(57) Abstract			
<p>The invention relates to a method for identifying 5-methylcytosine positions in genomic DNA. The method is characterised by the following steps: a) the genomic DNA of a cell, a cell line, a tissue or an individual is chemically treated in such a way that the cytosine and 5-methylcytosine react differently and the two products present different base pairing behaviour in the duplex; b) the same nucleic acid section is amplified by means of a polymerase reaction; c) the same nucleic acid section of at least one other cell, cell line, tissue or individual or of any given reference DNA is treated according to steps a) and b); d) heteroduplexes are formed from the at least two amplification products obtained in steps b) and c); and e) a detectable marking is introduced into the heteroduplexes by means of a reaction that is specific to non-complementary base pairs.</p>			
(57) Zusammenfassung			
<p>Beschrieben ist ein Verfahren zur Identifikation von 5-Methylcytosin-Positionen in genomischer DNA, welches dadurch gekennzeichnet ist, daß folgende Verfahrensschritte ausgeführt werden: a) die genomische DNA einer Zelle, einer Zelllinie, eines Gewebes oder eines Individuums wird chemisch so behandelt, daß Cytosin und 5-Methylcytosin unterschiedlich reagieren und sich in der Duplex ein unterschiedliches Basenpaarungsverhalten der beiden Produkte ergibt, b) derselbe Nukleinsäure-Abschnitt mittels einer Polymerasereaktion amplifiziert wird, c) der gleiche Nukleinsäure-Abschnitt mindestens einer weiteren Zelle, Zelllinie, Gewebes oder Individuums oder einer beliebigen Referenz-DNA entsprechend den Punkten a) und b) behandelt wird, d) aus den mindestens zwei Amplifikaten der Punkte b) und c) Heteroduplexes gebildet werden, e) durch eine Reaktion, die spezifisch ist für nicht komplementäre Basenpaare, eine aufzeigbare Markierung in die Heteroduplex eingeführt wird.</p>			